乳脂奇数和支链脂肪酸含量与瘤胃液挥发性脂肪酸含量的关系

刘可园 王晓帆 丁 雪 郝小燕 张永根* 辛杭书*

（东北农业大学动物科学技术学院，哈尔滨 150030）

摘 要：本试验旨在确定乳脂奇数和支链脂肪酸（OBCFA）含量与瘤胃挥发性脂肪酸（VFA）含量的关系。选择同一胎次体重相近的健康荷斯坦奶牛，处于产奶初期、中期和晚期的各 3 头（同一时期奶牛产奶量相近）。采集的 12 h 内的瘤胃液和乳样本，分别测定瘤胃液中 VFA 的含量和乳脂 OBCFA 的含量。结果表明：瘤胃液中各种 VFA 含量均能找到与之显著或极显著相关的 OBCFA 含量（$P\leq0.05$ 或 $P\leq0.01$）。以乳脂 OBCFA 含量预测乙酸、丙酸和丁酸含量的回归方程的均方根误差分别为 1.57、1.06 和 0.33，预测异丁酸、异戊酸和戊酸的为 0.13。结果提示，以乳脂 OBCFA 含量为基础得到的预测瘤胃液中各种 VFA 含量的回归方程可以应用于瘤胃内 VFA 含量的预测。

关键词：乳脂奇数和支链脂肪酸；瘤胃发酵；挥发性脂肪酸

中图分类号：S823

据估计，反刍动物吸收能量的 70%~80%由挥发性脂肪酸（VFA）提供[1]，研究表明，反刍动物瘤胃内乙酸和丁酸主要用于合成脂肪酸，丙酸是则葡萄糖合成的前体。因此，瘤胃内的各种 VFA 含量和组成对评定反刍动物瘤胃的能量利用都是十分重要的[2]。Dijkstra 等[3]建立了一种模拟反刍动物瘤胃消化、吸收的动态模型，但为提高预测的精确度需要了解瘤胃内营养的消化吸收情况。Friggens 等[4]根据经验研究了绵羊瘤胃发酵参数和饲粮化学组成的关系得到了预测瘤胃液 VFA 含量的方程，研究发现瘤胃液 VFA 含量与饲料的化学成分有关，但是将试验饲粮因素加入到回归方程，并没有提高预测方程的精确度。Rymer 等[5]等发现体外产气速率与瘤胃内的乙酸和丁酸的含量呈负相关而与丙酸和戊酸的含量成正相关。然而，Brown 等[6]却得到体外产气率与乙酸和丁酸含量负相关，与丙酸的含量呈正相关。目前，为了准确测定瘤胃 VFA 含量需要对动物进行手术安装瘘管或是通过食道插

收稿日期：2015-07-13

基金项目：国家奶牛产业技术体系（CARS-37）；现代产业技术体系子课题——奇链支链脂肪酸作为微生物标记物的研究（CARS-37-02）

作者简介：刘可园（1985—），女，黑龙江哈尔滨人，博士研究生，动物营养与饲料科学专业。E-mail:1226390656@qq.com

*通信作者：张永根，教授，博士生导师，E-mail: zhangyonggen@sina.com;辛杭书，副教授，E-mail: xinhangshu@163.com

管取样，这样在试验过程中会对动物体造成伤害产生应激，使试验结果产生误差，也不符合动物福利的要求，因此选择一种新的非侵害的方法研究瘤胃的发酵是非常必要的。乳脂作为非常容易获得的样本已经被用于动物体健康和营养研究[7-8]。其中的奇数和支链脂肪酸（odd- and branched-chain fatty acids,OBCFA）主要来源于离开瘤胃细菌的脂质,而且内源合成的量十分有限[9]，研究发现不同的瘤胃细菌的 OBCFA 组成不同，可以用于瘤胃微生物种群组成和变化的评估。Vlaeminck 等[10]通过体外试验得到瘤胃液中 OBCFA 含量与乙酸、丙酸和丁酸含量相关性高。之后，他们在研究乳脂 OBCFA 与瘤胃液 VFA 含量关系时也得到了相似的结果[11]。本试验中为了消除产奶不同时期对试验数据的影响，分别采集了处于不同产奶时期奶牛的试验样本。本试验的目地是研究乳脂 OBCFA 含量与瘤胃液 VFA 的关系，并利用乳脂 OBCFA 建立瘤胃液 VFA 含量预测的回归方程。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验在黑龙江省哈尔滨市对青山镇完达山奶牛场进行，选择第1胎次体重[（650±33）kg]相近的健康荷斯坦奶牛，处于产奶初期、中期和晚期的各3头（同一时期奶牛产奶量相近）。产奶初期、中期和晚期的产奶量分别为(35.44±2.63) kg/d、(37.62±2.85) kg/d 和(26.98±2.79) kg/d。饲养管理按照牛场高产奶牛常规进行，06:00和18:00投放高产奶牛全混合日粮（TMR），为奶牛场常规饲粮，自由采食和饮水，其组成及营养水平见表1。TMR的主要营养水平测定方法如下：样品经过（60±5） ℃干燥处理后测定干物质（DM）含量[12]，氮含量利用凯氏定氮方法测定[12]，粗蛋白质含量为氮含量的6.25倍；酸性洗涤纤维（ADF）和中性洗涤纤维（NDF）含量测定参照Soest等的方法[13]，使用热稳定的α-淀粉酶（α-amylase）用Ankom 220纤维分析仪测定；钙（Ca）和总磷（TP）含量的测定方法参照杨胜[14]提供的方法。产奶净能依据《奶牛营养需要和饲料成分》[15]中的方法计算。

表 1 全混合日粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the TMR (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
苜蓿 Alfalfa hay	7.32
羊草 Chinese wildrye	4.30
玉米青贮 Corn silage	33.38
玉米 Corn	21.98
豆粕 Soybean meal	4.05
干酒糟及其可溶物 DDGS	21.40

棉籽粕 Cottonseed meal	5.81
糖蜜 Molasses	0.50
食盐 NaCl	0.30
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.15
石粉 Limestone	0.52
预混料 Premix[1)]	0.30
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]	
产奶净能 NE_L/(MJ/kg)	8.71
粗蛋白质 CP	16.22
中性洗涤纤维 NDF	31.20
酸性洗涤纤维 ADF	18.34
钙 Ca	0.87
总磷 TP	0.46

[1)]预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of the diet：VA 330 000 IU，VD 60 000 IU，VE 1 000 IU，Zn 2 100 mg，Mn 1 500 mg，Cu 535 mg，Se 12 mg，I 45 mg。

[2)]产奶净能为计算值[15]，其他营养水平为实测值。NE_L was a calculated value[15], while the other nutrient levels were measured values.

采集奶样和瘤胃液，各约 100 mL，-20 ℃保存。奶样采集利用阿菲金自动挤奶机取样，每头牛每天 02:00、10:00 和 16:00 取样约 200 mL 按照 4:3:3 的比例混合后取 5 mL，-20 ℃保存，共 27 个样本。使用胃管式瘤胃液采集器（武汉市科立博器材有限公司）采集瘤胃液。为避免给试验动物造成伤害，产生应激反应，采集 08:00—20:00 12 h 每隔 2 h 的样品，分 3 d 进行，采样时间点如下：第 1 天，08:00、14:00、20:00；第 2 天，12:00、18:00；第 3 天，10:00、16:00，采集的瘤胃液经 4 层纱布过滤后，取 5 mL 按 20%的比例加入 15%（*m*/*V*）的偏磷酸保护液后，-20 ℃保存，共 63 个样本。

1.2 样品处理与分析

采集的瘤胃液按照 Li 等[16]提供的方法处理，瘤胃液解冻后 1 000×*g* 离心 15 min 后取上清，然后上清经 12 000×*g* 离心 15 min 后用 0.22 μm 滤膜过滤后用气相色谱仪（GC-2010,Tokyo,日本）使用 FFAP 色谱柱（HP-INNOWAX,30 m×0.25 mm×0.2 μm）测定每种 VFA 含量。乳脂处理参照 Vlaeminck 等[7]的方法，使用气相色谱仪（GC-2010,Tokyo,日本）测定各种 OBCFA 含量，色谱柱为 SP-2560TM（100 m×0.25 mm×0.2 μm）。具体方法：取 2 mL 乳样加入到 25 mL 的带有螺旋盖的耐高温离心管中，然后加入 2.5 mL 甲醇、1.25 mL 氯仿，涡旋混匀。室温放置 1 h，每隔 10 min 涡旋 1 次。1 h 后，加入 1.25 mL 氯仿、1.15 mL 水、0.1 mL 3 mol/L 的 HCl，室温下 1 200×*g* 离心 3 min；底层的氯仿层经无水硫酸钠上干燥，过滤，上层再加入 1.25 mL 的氯仿萃取 1 次，室温下 1 200×*g* 离心 3 min 后，取

底层溶液经无水硫酸钠上干燥，过滤；收集 2 次滤液到离心管中，氮气吹干，加入 3 滴苯，涡旋混匀；在离心管中加入 200 μL 氢氧化钠醇溶液（0.2 mg NaOH 溶解到甲醇中）使脂肪甲基化，室温静置 25 min 后，加入 11 mL 甲醇化的硫酸（2.8 mL 96%的硫酸加入到 100 mL 甲醇中），振荡混匀后，50 ℃水浴 15 min，-20 ℃保存 3 min；加入 1.0 mL 水和 1.0 mL 己烷，涡旋混匀，室温下 1 200×*g* 离心 3 min，取上层经 0.22 μm 滤膜过滤后用于测定。气相色谱测定的条件：进样口温度为 240 ℃，压力为 266.9 kPa，载气为高纯氮气。柱温箱采用逐阶段升温程序，初始温度为 170 ℃维持 30 min，再以 1.5 ℃/min 升到 200 ℃维持 20 min，最后以 5 ℃/min 升高到 230 ℃维持 5 min。

1.3 数据分析

瘤胃液 VFA 含量采用各种 VFA 占总 VFA 的比例（%），总 VFA 浓度是乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸浓度的总和。乳脂 OBCFA 含量为各种 OBCFA 占总脂肪酸的含量的比例（%）。数据分析均使用 SAS 9.2 软件进行，相关和回归分析以乳脂 OBCFA 含量为自变量，瘤胃液 VFA 含量为因变量，每个奶牛个体的每个时间点的瘤胃液 VFA 数据与采集瘤胃液当天乳脂 OBCFA 的数据相对应进行分析。相关分析使用 PROC CORR 过程，分析结果通过 Pearson 方法进行检验，$0.05<P\leq 0.10$ 表示趋于相关，$P\leq 0.05$ 表示显著相关，$P\leq 0.01$ 表示极显著相关。回归分析采用 PROC REG 过程的 STEPWISE 进行多元逐步回归分析，模型采用线性混合模型[17]并利用最小二乘法进行参数估计，回归方程使用均方根误差（RMSE）、变异系数（CV）和决定系数(R^2）进行检验。RMSE 计算公式如下：

$$RMSE=\sqrt{\frac{1}{n}\times\sum_{n=i}^{n}(y_i-\hat{y}_i)^2}$$。

式中：n为样本量，y_i和$\hat{y}_i$分别为观测值和预测值。

将测定的乳脂OBCFA含量代入回归方程得到瘤胃液VFA含量的预测结果与实测的结果使用CORR过程进行相关分析，结果通过Pearson方法进行检验，并计算两者相对偏差，得到预测结果与实测结果的残差图。

2 结果与分析

2.1 瘤胃液各种 VFA 含量与乳脂 OBCFA 的关系

由表 2 可见，从各瘤胃发酵参数的结果显示乙酸、丙酸和丁酸含量多且变异系数较

小，而异丁酸、异戊酸和戊酸含量较少且变异系数较大。瘤胃液中的乙酸含量最多，其次是丙酸和丁酸，其他几种酸含量较少。乳脂中的各种 OBCFA 含量不同，线性奇数脂肪酸含量较多，反式异构的支链脂肪酸较少。OBCFA 中反式异构十七烷酸（*antiso*C17:0）含量和十五烷酸（C15:0）较多，其次是异构十七烷酸（*iso*C17:0）、十七烷酸（C17:0）和反式异构十五烷酸（*antiso*C15:0）。反式异构和线性奇数脂肪酸含量变异较小，而异构脂肪酸的变异系数较大。

表 2 用于预测模型的数据统计结果

Table 2 Statistical results of data used for prediction model

项目 Items	平均值 Mean	标准差 SD	最大值 Max	最小值 Min	变异系数 CV/%
瘤胃液挥发性脂肪酸含量 VFA content in rumen fluid (*n*=63)					
总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	60.14	11.04	40.90	89.39	18.36
乙酸 Acetate/%	52.10	3.30	45.05	61.82	6.33
丙酸 Propionate/%	29.56	2.21	23.55	33.86	7.48
异丁酸 Isobutyrate/%	1.51	0.28	0.62	2.25	18.54
丁酸 Butyrate/%	12.12	0.72	9.94	13.98	5.94
异戊酸 Isovalerate/%	2.10	0.32	1.23	3.33	15.24
戊酸 Valerate/%	2.61	0.31	1.58	3.34	11.88
乳脂奇数和支链脂肪酸含量 OBCFA in milk fat (*n*=27)					
十一烷酸 C11:0/%	0.23	0.09	0.09	0.50	39.13
十三烷酸 C13:0/%	0.11	0.04	0.04	0.24	36.36
异构十五烷酸 *Iso*C15:0/%	0.17	0.06	0.10	0.39	35.29
反式异构十五烷酸 *Antiso*C15:0/%	0.38	0.07	0.23	0.58	18.42
十五烷酸 C15:0/%	0.81	0.11	0.65	1.02	13.58
异构棕榈酸 *Iso*C16:0/%	0.20	0.07	0.10	0.37	35.00
异构十七烷酸 *Iso*C17:0/%	0.53	0.11	0.22	0.88	20.75
反式异构十七烷酸 *Antiso*C17:0/%	1.03	0.19	0.73	1.44	18.45
十七烷酸 C17:0/%	0.44	0.07	0.34	0.59	15.91

各种 VFA 含量与各种 OBCFA 含量的相关关系结果见表 3。瘤胃液中各种 VFA 含量均能找到与之显著或极显著相关的 OBCFA 含量（$P≤0.05$ 或 $P≤0.01$）。十一烷酸（C11:0）含量与乙酸和戊酸含量相关性高。异构十五烷酸（*iso*C15:0）与异戊酸含量相关性趋于显著（$0.05<P≤0.10$）。C15:0 含量与乙酸和丙酸含量相关性较高。异构棕榈酸（*iso*C16:0）含量与除丙酸和丁酸外的其他几种 VFA 含量的相关性都较高。*iso*C17:0 含量与异戊酸和戊酸含量相关性高。C17:0 含量与各种 VFA 含量相关性都较高，与乙酸含量呈正相关，而与其他 VFA 含量呈负相关。

表 3 瘤胃液挥发性脂肪酸含量与乳脂奇数和支链脂肪酸含量的相关关系

Table 3 Correlation between contents of rumen fluid VFAs and milk fat OBCFAs (*n*=63)

项目 Items	乙酸 Acetate		丙酸 Propionate		异丁酸 Isobutyrate		丁酸 Butyrate		异戊酸 Isovalerate		戊酸 Valerate	
	相关系数 *r*	*P* 值 *P*-value	相关系数 *r*	*P* 值 *P*-value	相关系数 *r*	*P* 值 *P*-value	相关系数 *r*	*P* 值 *P*-value	相关系数 *r*	*P* 值 *P*-value	相关系数 *r*	*P* 值 *P*-value

十一烷酸 C11:0	-0.21	0.097	0.20	0.117	0.18	0.165	0.11	0.411	0.17	0.180	0.25	0.047
十三烷酸 C13:0	0.09	0.481	-0.09	0.486	-0.14	0.279	0.00	0.976	-0.15	0.254	-0.04	0.737
异构十五烷酸 *Iso*C15:0	-0.15	0.247	0.12	0.362	0.15	0.232	0.09	0.494	0.23	0.064	0.16	0.197
反式异构十五烷酸 *Antiso*C15:0	-0.11	0.388	0.12	0.348	0.10	0.458	0.05	0.674	0.09	0.467	0.01	0.913
十五烷酸 C15:0	0.21	0.097	-0.29	0.020	-0.15	0.242	0.03	0.789	-0.03	0.805	-0.07	0.592
异构棕榈酸 *Iso*C16:0	-0.22	0.080	0.18	0.165	0.24	0.061	0.07	0.581	0.45	<0.001	0.27	0.031
异构十七烷酸 *Iso*C17:0	0.09	0.503	0.04	0.770	-0.20	0.115	-0.14	0.263	-0.38	0.002	-0.28	0.024
反式异构十七烷酸 *Antiso*C17:0	-0.17	0.183	0.22	0.086	0.19	0.137	-0.04	0.736	0.03	0.831	0.16	0.199
十七烷酸 C17:0	0.31	0.014	-0.22	0.081	-0.41	0.001	-0.31	0.014	-0.25	0.045	-0.36	0.003

2.2 多元回归方程

由表 4 可见，各参数检验 *P* 值都小于 0.05。瘤胃液乙酸、丙酸和丁酸回归方程的 RMSE 分别为 1.57、1.06 和 0.33，异丁酸、异戊酸和戊酸回归方程的 RMSE 均为 0.13。各方程的决定系数都在 0.4 以上，其中乙酸和丁酸的在 0.6 以上。

表 4 用乳脂奇数和支链脂肪酸含量估测瘤胃液挥发性脂肪酸含量的方程

Table 4 Equations to predict rumen contents of rumen fluid VFAs from milk fat OBCFAs %

项目 Items	截距 Intercept			自变量 Independent variable				均方根误差 RMSE	变异系数 CV/%	决定系数 R^2
	回归系数 β_0	标准误 SE	*P* 值 *P*-value	变量 Variable	回归系数 β_k	标准误 SE	*P* 值 *P*-value			
乙酸 Acetate	55.84	2.02	<0.000 1	十一烷酸 C11:0	-19.44	2.87	<0.000 1	1.57	3.01	0.626 6
				十五烷酸 C15:0	6.28	2.24	0.007 7			
				异构棕榈酸 *Iso*C16:0	-21.5	3.79	<0.000 1			
丙酸 Propionate	38.29	1.60	<0.000 1	十五烷酸 C15:0	-6.92	1.52	<0.000 1	1.06	3.54	0.421 2
				十七烷酸 C17:0	-6.75	2.48	0.009 5			
异丁酸 Isobutyrate	2.66	0.18	<0.000 1	十五烷酸 C15:0	-0.72	0.18	0.000 2	0.13	8.56	0.453 6
				十七烷酸 C17:0	-1.15	0.29	0.000 2			
丁酸 Butyrate	15.41	0.35	<0.000 1	十七烷酸 C17:0	-7.44	0.78	<0.000 1	0.33	2.75	0.667 5
异戊酸 Isovalerate	2.10	0.16	<0.000 1	异构棕榈酸 *Iso*C16:0	1.46	0.35	0.000 1	0.13	6.46	0.451 4
				异构十七烷酸 *Iso*C17:0	-0.57	0.21	0.000 1			
戊酸 Valerate	2.10	0.09	<0.000 1	十一烷酸 C11:0	0.66	0.26	0.008 9	0.13	5.04	0.497 9
				异构棕榈酸 *Iso*C16:0	1.85	0.30	<0.000 1			

2.3 多元回归方程估测结果与实测结果比较

由表 5 可见，通过对实测值和回归方程估测值的相关分析得到实测值与估测值之间均极显著相关（*P*≤0.01），异丁酸和异戊酸的预测值与实测值的相关性较高（*r*＞0.5），其他的较低。统计相对偏差在≤10%范围内，乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸的数值个数分别占数值总数的 90.48%、85.71%、55.56%、90.48%、68.25%和 71.43%。

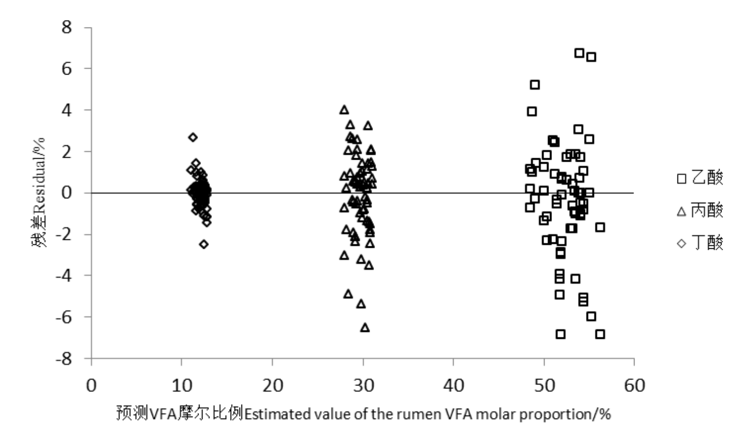
表 5 利用回归方程估测瘤胃液挥发性脂肪酸含量的结果

Table 5 Estimated results of rumen fluid VFA contents using regression equations

项目 Items	实测值 Measured value/%	估测值 Estimated value/%	残差 Residual	相关性分析 Correlation analysis		偏差范围对应数值个数 Number of data corresponded to relative deviation range		
				相关系数 *r*	*P* 值 *P*-value	<5%	5%~10%	>10%

乙酸 Acetate	52.10±3.30	52.31±2.08	-0.213	0.395 7	0.001 3	47	10	6
丙酸 Propionate	29.56±2.21	29.71±0.92	-0.143	0.349 4	0.005 0	38	16	9
异丁酸 Isobutyrate	1.51±0.28	1.57±0.12	-0.061	0.737 9	<0.000 1	22	13	28
丁酸 Butyrate	12.12±0.72	12.15±0.50	-0.034	0.307 8	<0.000 1	45	12	6
异戊酸 Isovalerate	2.10±0.32	2.08±0.14	0.013	0.849 5	<0.000 1	30	13	20
戊酸 Valerate	2.61±0.31	2.61±0.13	-0.004	0.376 0	0.002 4	28	17	18

以表 3 得到的回归方程的预测值为横坐标，实测值和预测值的残差为纵坐标所做的残差图（图 1）显示，各数据点随机平均分配在 X 轴上下。



A

B

图 1 瘤胃液挥发性脂肪酸含量估测值与实测值的残差图

Fig.1 Residual plot of estimated and measured values of the rumen fluid VFA contents

3 讨 论

3.1 瘤胃液 VFA 含量与乳脂 OBCFA 含量的关系

批注 [W1]: 横坐标
挥发性脂肪酸含量 VFA contents/%
图例补英文
Acetate
Propionate
Butyrate

批注 [W2]:
横坐标
挥发性脂肪酸含量 VFA contents/%
图例补英文
Isobutyrate
Isovalerate
Valerate

Sutton 等[18]研究发现瘤胃液中 VFA 的含量对于评定瘤胃吸收 VFA 更有价值，也更准确。因此，瘤胃液 VFA 的含量能够为动物营养利用提供更有价值的信息。本试验中使用的数据即是瘤胃内各种 VFA 占总 VFA 的比例。瘤胃液中的各种 VFA 的含量和乳脂中的 OBCFA 含量与其他试验得到的结果相近[15]。

瘤胃微生物在脂肪酸合成酶作用下，以 VFA 为前体合成饱和脂肪酸。丙酸和戊酸延长形成奇数线性脂肪酸[19]，而支链脂肪酸以支链的氨基酸（亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸）和支链短的 VFA（异丁酸和异戊酸）为前体合成[20]。本试验得到乳脂 C15:0 含量与瘤胃液中的乙酸和丙酸含量的相关系数大，乳脂 C17:0 含量与瘤胃液中的乙酸、丙酸和丁酸含量相关性较大，此结果与 Vlaeminck 等[11]研究乳脂 OBCFA 含量与瘤胃发酵参数关系得到的结果一致。另外，Vlaeminck 等[11]还得到乳脂异构豆蔻酸（*iso*C14:0）和 *iso*C15:0 含量与瘤胃液乙酸含量呈正相关。本试验得到乳脂 *iso*C16:0 含量与瘤胃液乙酸含量呈负相关的结果。产生这一结果的原因可能是由于瘤胃细菌合成不同异构脂肪酸的过程不同造成的[19]；另外，Dijkstra[21]指出相比于淀粉，瘤胃可发酵纤维会产生较多的乙酸和较少的丙酸和丁酸，物质不同的发酵方式也可能是原因之一。本试验结果显示，瘤胃液乙酸含量与乳脂中 C15:0 含量呈正相关。Vlaeminck 等[11]在研究乳脂 OBCFA 含量与瘤胃发酵参数关系中也得到了相似的结果。本试验中瘤胃液丙酸含量与乳脂 C15:0 和 C17:0 含量存在负相关关系。研究表明，乳腺组织能够合成丙酰辅酶 A 用于线性奇数脂肪酸的合成。French 等[22]向瘤胃内灌注丙酸发现瘤胃内丙酸含量没有显著提高，而乳脂中的 C15:0 和 C17:0 含量有显著提高；丙酸在瘤胃中被吸收的速率加快[23]，这些都是导致这一结果的原因。本试验中丁酸的含量与乳脂中的 C17:0 含量呈负相关。丁酸与乙酸一样可用于脂肪组织和乳腺的脂肪酸合成，乙酸和丁酸之间还可以相互转化[18]。除此之外，丁酸在瘤胃内吸收速率[23]和代谢途径[24]也与乙酸有很大的不同，因此两者与乳脂脂肪酸的关系存在差异。

异位酸是一些瘤胃细菌尤其是纤维分解菌消化和合成蛋白质所必需的营养因子[25]。Liu 等[26]研究得到饲粮补充异位酸有利于瘤胃微生物蛋白合成，植物细胞壁发酵和干物质的消化。本试验发现异丁酸、异戊酸和戊酸含量与乳脂 *iso*C16:0 含量呈正相关，与乳脂 C17:0 含量呈负相关，瘤胃液异戊酸含量与乳脂 *iso*C15:0 含量正相关。瘤胃微生物一方面分解饲粮中的支链氨基酸产生异位酸，另一方面利用异位酸合成微生物体自身支链氨基酸[27]。因

此，瘤胃液异位酸含量影响瘤胃微生物生长还与饲粮蛋白质有关。Cabrita 等[28]*antiso*C17:0含量与瘤胃液氨态氮含量相关，建议可以作为瘤胃内蛋白质早期获得或缺陷的标记物质。

3.2 多元回归方程的建立及其估测值与实测值得比较

从表 4 中得到以乳脂的 OBCFA 含量为自变量建立的估测瘤胃液中 VFA 含量的回归方程是可靠的。RMSE 能够说明预测方程的可靠性，值越低说明回归方程的越可靠。Bannink 等[29]总结得到各种瘤胃液 VFA 含量的预测模型的 RMSE，乙酸在 0.89~5.00 之间，丙酸在 4.55~9.70 之间，丁酸在 1.50~5.32 之间。Vlaeminck 等[11]得到的瘤胃液 VFA 含量的预测方程的乙酸、丙酸和丁酸 RMSE 分别为 2.05、1.77 和 1.07。本试验得到的回归方程的 RMSE 比较小，说明得到的回归方程的可靠性较高，可以用于实际应用。一般认为决定系数小于 0.5 时，所得的回归直线很难说明变量之间的依赖关系。在本试验中乙酸和丁酸的预测方程的决定系数较高（>0.5），估测值的变异系数较小，说明预测方程的可靠性较高。

3.3 多元回归方程估测瘤胃液 VFA 的预测值与实测值的比较

各回归方程的预测值与实测值差异不显著，而且 2 组数值均极显著相关，相对误差在≤10%范围的数值个数在 50%以上。这些结果表明，用于预测瘤胃液 VFA 含量的方程有一定的准确性。乙酸和丁酸的相对误差在≤10%范围的数值个数在 90%以上，说明这 2 个预测方程的评定结果更为准确。

由于瘤胃液 VFA 含量会受到瘤胃发酵模式的影响，饲粮的精粗比及油脂添加情况等都会对瘤胃发酵产生影响，导致回归方程预测值的偏差。有研究表明，饲粮中高含量的瘤胃可消化淀粉会使乙酸的预测值偏低，丙酸的预测值偏高[30]。奶牛饲粮中较多粗饲料会导致乙酸模型的预测值高于实测值，而使丙酸预测值略低于实测值[31]。饲粮内的亚麻籽油在瘤胃内被消化，产生乙酸，会影响乙酸含量的预测的准确性[32]。因此，为了提高预测方程的准确性，饲粮因素也需要考虑到回归方程中，另外各种 OBCFA 在体内的转运过程和对于乳脂 OBCFA 的贡献，特别是导致负能量平衡的部分还需要进一步的研究。

4 结 论

乳脂 OBCFA 含量与瘤胃内各种 VFA 的含量存在着相关关系，以乳脂 OBCFA 建立的瘤胃液各种 VFA 含量的回归方程准确性较高，尤其是乙酸和丙酸含量的预测方程，可以应用于实际的试验研究及生产。

参考文献：

[1] VAN HOUTERT M.Challenging the retinal for altering VFA ratios in growing ruminates[J].Feed Mix,1996,4(1):514–525.

[2] SUTTON J D.Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow[J].Journal of Dairy Science,1985,68(12):3376–3393.

[3] DIJKSTRA J,NEALH D S C,BEEVER,D E,et al.Simulation of nutrient digestion,absorption and outflow in the rumen:model description[J].The Journal of Nutrition,1992,122(11):2239–2295.

[4] FRIGGENS N C,OLDHAM J D,DEWHURST R J,et al.Proportions of volatile fatty acids in relation to the chemical composition of feeds based on grass silage[J].Journal of Dairy Science,1998,81(5):1331–1344.

[5] RYMER C,GIVENS D I.Relationships between patterns of rumen fermentation measured in sheep and *in situ* degradability and the *in vitro* gas production profile of the diet[J].Animal Feed Science and Technology,2002,101(1/2/3/4):31–44.

[6] BROWN V E,RYMER C,AGNEW R E,et al.Relationship between *in vitro* gas production profiles of forages and *in vivo* rumen fermentation patterns in beef steers fed those forages[J].Animal Feed Science and Technology,2002,98(1/2):13–24.

[7] VLAEMINCK B,DUFOUR C,VAN VUUREN A M,et al.Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker[J].Journal of Dairy Science,2005,88(3):1031–1042.

[8] MOTTRAM T.Automatic monitoring of the health and metabolic status of dairy cows[J].Livestock Production Science,1997,48(3):209–217.

[9] KEENEY M,KATZ I,ALLISON M J.On the probable origin of some milk fat acids in rumen microbial lipids[J].Journal of the American Oil Chemists Society,1962,39(4):198–201.

[10] VLAEMINCK B,FIEVEZ V,VAN LAAR H,et al.Rumen odd and branched chain fatty acids in relation to *in vitro* rumen volatile fatty acid productions and dietary characteristics of incubated substrates[J].Journal of Animal Physiology and Animal

Nutrition,2004,88(11/12):401–411.
[11] VLAEMINCK B,FIEVEZ V,TAMMINGA S,et al.Milk odd- and branched-chain fatty acids in relation to the rumen fermentation pattern[J].Journal of Dairy Science,2006,89(10):3954–3964.
[12] AOAC.Official methods of analysis[M].15th ed.Arlington,Virginia,USA:Association of Official Analytical Chemists,1990.
[13] VAN SOEST P J,Robertson J B,LEWIS B A.Methods for dietary fiber,neutral detergent fiber,and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J].Journal of Dairy Science,1991,74(10):3583–3597.
[14] 杨胜.饲料分析及饲料质量检测技术[M].北京:中国农业大学出版社,1993:28–32.
[15] 冯仰廉,陆治年.奶牛营养需要和饲料成分[M].北京:中国农业出版社,2007:1–2.
[16] LI Y,MENG Q.Effect of different types of fibre supplemented with sunflower oil on ruminal fermentation and production of conjugated linoleic acids *in vitro*[J].Archives of Animal Nutrition,2006,60(5):402–411.
[17] ST-PIERRE N R.*Invited review*:integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology[J].Journal of Dairy Science,2001,84(4):741–755.
[18] SUTTON J D,DHANOA M S,MORANT S V,et al.Rates of production of acetate,propionate,and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets[J].Journal of Dairy Science,2003,86(11):3620–3633.
[19] VLAEMINCK B,FIEVEZ V,CABRITA A R J,et al.Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk:a review[J].Animal Feed Science and Technology,2006,131(3/4):389–417.
[20] KANEDA T.Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria:biosynthesis,function,and taxonomic significance[J].Microbiology and Molecular Biology Reviews,1991,55(2):288–302.
[21] DIJKSTRA J.Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen[J].Livestock Production Science,1994,39(1):61–69.
[22] FRENCH E A,BERTICS S J,ARMENTANO L E.Rumen and milk odd- and branched-chain

fatty acid proportions are minimally influenced by ruminal volatile fatty acid infusions[J].Journal of Dairy Science,2012,95(4):2015–2026.

[23] DIJKSTRA J,BOER H,VAN BRUCHEM J,et al.Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acids concentration,pH and rumen liquid volume[J].British Journal of Nutrition,1993,69(2):385–396.

[24] 杜瑞平.绵羊瘤胃乙酸和丁酸的产生、吸收和利用规律及可代谢生脂物质(MLS)的测定[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2006.

[25] ALLISON M J,BRYANT M P.Biosynthesis of branched-chain amino acids from branched-chain fatty acids by rumen bacteria[J].Archives of Biochemistry and Biophysics,1963,101(2):269–277.

[26] LIU Q,WANG C,YANG W Z,et al.Effects of isobutyrate on rumen fermentation,lactation performance and plasma characteristics in dairy cows[J].Animal Feed Science and Technology,2009,154(1/2):58–67.

[27] ANDRIES J I,BUYSSE F X,DE BRABANDER D L,et al.Isoacids in ruminant nutrition:their role in ruminal and intermediary metabolism and possible influences on performances—a review[J].Animal Feed Science and Technology,1987,18(3):169–180.

[28] CABRITA A R J,FONSECA A J M,DEWHURST R J,et al.Nitrogen supplementation of corn silages.2.Assessing rumen function using fatty acid profiles of bovine milk[J].Journal of Dairy Science,2003,86(12):4020–4032.

[29] BANNINK A,DE VISSER H,VAN VUUREN A M.Comparison and evaluation of mechanistic rumen models[J].The British Journal of Nutrition,1997,78(4):563–581.

[30] VAN NESPEN T,VLAEMINCK B,WANZELE W,et al.Use of specific milk fatty acids as diagnostic tool for rumen acidosis in dairy cows[J].Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences,2005,70(2):277–280.

[31] KRAFT J,COLLOMB M,MÖCKEL P,et al.Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids[J].Lipids,2003,38(6):657–664.

[32] LOOR J J,FERLAY A,OLLIER A,et al.Relationship among trans and conjugated fatty acids

and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil[J].Journal of Dairy Science,2005,88(2):726–740.

Relationship between Contents of Milk Fat Odd- and Branched-Chain Fatty Acids and Rumen Fluid Volatile Fatty Acids

LIU Keyuan WANG Xiaofan DING Xue HAO Xiaoyan ZHANG Yonggeng* XIN Hangshu*

(*College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Haerbin* 150030, *China*)

Abstract: The objective of this experiment were to determine whether a relationship existed between the contents of volatile fatty acids (VFAs) in rumen fluid and odd- and branched-chain fatty acids (OBCFAs) in milk fat. Nine healthy lactating Holstein dairy cows with same parity and similar body weight were selected, which were at early, middle and late lactation period (3 cows per period), respectively, and cows of the same period had similar milk production. Rumen fluid and milk samples of 12 h were collected to determine the contents of VFAs in rumen fluid and OBCFAs in milk fat. The results showed that OBCFA contents significantly correlated with individual VFA contents could be found （$P\leq0.05$ or $P\leq0.01$）. The root mean square error of the regression equations, which were used to predict the contents of acetate, propionate, isobutyrate, butyrate, isovalerate and valerate in rumen fluid using milk fat OBCFA contents, were 1.57, 1.06, 0.13, 0.33, 0.13 and 0.13, respectively. This suggests that the currently developed prediction equations based on milk OBCFA contents show potential to predict the contents of individual VFAs in rumen fluid.

Key words: milk odd- and branched-chain fatty acids; rumen fermentation; volatile fatty acids

*Corresponding authors: ZHANG Yonggeng, professor, E-mail: zhangyonggen@sina.com; XIN Hangshu, associate professor, E-mail: xinhangshu@163.com (责任编辑 王智航)